Aus der Universitätsfrauenklinik Tübingen
Direktor: Professor Dr. med. Hans Roemer

Die Verteilung von Kohlenhydraten und Fetten im Ovarialcarcinom

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
HERMANN JUNGER
aus Tübingen

1969

Aus der Universitätsfrauenklinik Tübingen
Direktor: Professor Dr.med. Hans Roemer

Die Verteilung von Kohlenhydraten und Fetten im Ovarialcarcinom

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Hermann Junger
aus Tübingen

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

D e k a n : Prof.Dr.med. J.Hirschmann
1. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr.med. A.Pfleiderer
2. Berichterstatter: Prof.Dr.med. H. Roemer

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

A E i n l e i t u n g

Einteilung des Ovarialcarcinoms S. 1

Das Vorkommen von Kohlenhydraten und Lipiden im Muttergewebe der Ovarialcarcinome S. 1

Die Bedeutung des Kohlenhydrat- und Fett - gehaltes eines Carcinoms S. 3

Das Vorkommen von Kohlenhydraten und Lipiden im Ovarialcarcinom nach bisherigen Beschreibungen S. 7

B F r a g e s t e l l u n g S. 11

C U n t e r s u c h u n g s m a t e r i a l S. 12

Klinik S. 12

Histologie S. 12

D M e t h o d i k S. 15

Schneideverfahren S. 15

Fixierungsmittel S. 15

Histochemische Reaktionen zum Nachweis von Kohlenhydraten S. 16

Histochemische Reaktionen zum Nachweis von Lipoiden S. 19

E E r g e b n i s s e S. 24

Das hochdifferenzierte papillär-seröse Cystadenocarcinom S. 24

Das entdifferenzierte papillär-seröse Cystadenocarcinom S. 26

Das mucinöse Cystadenocarcinom S. 29

Das endometrioide Carcinom S. 29

Das undifferenzierte Ovarialcarcinom S. 30

Klinik der 29 Ovarialcarcinome S. 32

F Diskussion S. 33
Zusammenfassung S. 37
Erklärung der Abkürzungen S. 37
Literaturverzeichnis S. 38

A. E I N L E I T U N G

Bei der Behandlung der Ovarialcarcinome mit Cytostatika wird ein sehr unterschiedliches Ansprechen der Tumoren beobachtet. Dies wirft die Frage auf, ob die verschiedenen Therapieerfolge mit Cytostatika ihre primäre Ursache nicht in Besonderheiten des Stoffwechsels der Carcinome haben. Es sind daher Untersuchungen über die Enzym- und Stoffverteilung in den Ovarialcarcinomen wünschenswert.

Über die Verteilung von Kohlenhydraten und Fetten in diesen Tumoren liegen nur wenige Veröffentlichungen mit unterschiedlichen Ergebnissen vor. Um diese Befunde zu prüfen und zu sichern, wurden an einer größeren Zahl von Fällen mit modernen histochemischen Methoden neue Untersuchungen durchgeführt.

1. Einteilung des Ovarialcarcinoms

Die Grundlage jeder Beobachtung und Untersuchung kann an den vielfältigen Tumoren des Ovars nur mit einer Einteilung durchgeführt werden, die es jederzeit erlaubt, das Material mit dem anderer Untersucher zu vergleichen. Trotz vielen von verschiedenen Gesichtspunkten ausgehenden Vorschlägen, konnte dieses Problem bis heute noch nicht abschließend gelöst werden. Einen der ersten Einteilungsversuche hat Pfannenstiel (1906) in "Veit's Handbuch für Gynäkologie und Geburtshilfe" veröffentlicht. Als Grundlage benützte er das klinische und pathologisch-anatomische Verhalten der Tumoren. 1916 folgte von R.Meyer eine Einteilung der Ovarialcystome. Die von Sternberg (1926) vorgelegte Klassifizierung fand keinen Anklang, da die Unterteilung etwas willkürlich erschien. Miller (1937) gebrauchte im "Handbuch der speziellen pathologischen Anatomie und Histo-

logie" eine sehr komplizierte Aufgliederung, bei der er gleichzeitig morphologische, klinische und physiologische Kriterien zu Grunde legte. Durch diese Art der Einteilung erscheint ein und derselbe Tumor in verschiedenen Rubriken. Conill (1936) baute seine Einteilung auf vier Grundcharakteristika, dem Cystischen, Vegetativen, Soliden und Hormonellen auf. Leroux, Levret und Weinroth (1935) legen ihrer Einteilung der epithelialen Tumoren die Anatomie zugrunde. Goodrell (1935) ging in seinem Schema von der Embryogenese des Ovars aus. W. Schiller versuchte in seiner 1940 veröffentlichten Einteilung eine histogenetische Ordnung zu finden. Diese wurde sowohl von Meigs (1943), als auch von Spencer (1947) in modifizierter Form übernommen.

1961 veröffentlichte A.T. Hertig und H.Gore in ihrem Tumoratlas eine Einteilung der Ovarialtumoren und ihrer vermutlichen Histogenese. Vom Krebskomitee der Internationalen Föderation der Gynäkologen und Geburtshelfer wurde dann 1962 eine Einteilung der vom Keimepithel abstammenden Ovarialcarcinome empfohlen (Taylor 1962), nach der auch das hier untersuchte Material eingeordnet wurde.

Einteilung der Tumoren des Keimepithels

1. seröse Kystome
   - a. benigne
   - b. proliferierende = borderline Cystadenome
   - c. seröses Cystadenocarcinom
     - I. gut differenziert
     - II. Zwischenstufe
     - III. undiffer., aber sicher (1)

2. mucinöse Kystome (Schleimbildung)
   - a. benigne
   - b. proliferierende = borderline Cystadenome

c. mucinöse Cystadenocarcinome
I. gut differenziert
II. Zwischenstufe
III. undifferenziert, aber sicher (2)

3. endometrioide Tumoren (keine Zilien)
a. [1])
b. proliferierendes Adenom
c. endometrioide Adenocarcinome
I. gut differenziert
II. Zwischenstufe
III. undiff., aber sicher (3)

4. undifferenzierte Carcinome

Das Vorkommen von Kohlenhydraten und Lipiden im Muttergewebe der Ovarialcarcinome.

Im Mittelpunkt des Interesses stehen Ovarialtumoren, die sich vom Keimepithel ableiten. Dieses ist bekanntlich ein Rest des Coelomepithels. Aus diesem Epithel stammt das Material für die Müller'schen Gänge und damit also für Tuben, Uterus und einen Teil der Vagina. So wird verständlich, daß die Tumoren des Keimepithels als papillär-seröse Tumoren das Epithel der Tube, als mucinöse das der Endocervix, und als endometrioide Adenocarcinome das des Endometriums nachahmen können. Es liegt deshalb nahe, auch das Kohlenhydrat- und Fettvorkommen in der Tube, in der Endocervix und im Endometrium zum Vergleich heranzuziehen.

Über spezielle Untersuchungen des Kohlenhydrat- und Fettgehaltes des menschlichen Keimepithels ist nichts be-

---

1) Diese Spalte wurde deshalb freigelassen, da es bisher nicht gelang, eine Einigung darüber zu erzielen, ob einige Fälle ovarieller Endometriose als wirkliche Tumoren zu betrachten sind, oder alle versprengtes bzw. ektopisches Endometrium darstellen.

kannt. Im Keimepithel des Rattenovars beschreibt Harter (1948) eine feine perjodatpositive Granula, während Ishida (1954) bei mehreren untersuchten Spezies (Schaf, Ziege, Ratte usw.) kein solches Material finden konnte. Die Basalmembran, sowie die Kittsubstanz sind stets perjodatreaktiv. (Moss et al. 1954, Deane 1952, Harter 1948).

1. Kohlenhydrate und Fette in der Tube

Glykogen findet sich im apikalen Teil der Flimmerzellen, der zilienfreien Zellen und in den Übergangsformen (Balboni 1954). Nach den Beobachtungen von Fawcett und Wislocki (1950) wird Glykogen von den zilienfreien Zellen in das Lumen sezerniert, wo es zur Ernährung des Eies dienen soll. Der variable Glykogengehalt der Tube zeigt eine gewisse Zyklusabhängigkeit. Neben Glykogen finden sich auch andere diastaseresistente Polysaccharide im Epithel und in den Lumina (Fawcett und Wislocki 1950, Tsuchida 1956 usw.). Nach den Untersuchungen von Balboni (1954) nimmt der Gehalt des Tubenepithels an perjodatreaktivem Material mit der Umwandlung von den zilientragenden zu den keulen- bzw. stäbchenförmigen Zellen hin zu.

Über das Vorkommen von Fetten in der Tube berichtet Scheyer (1962), der sudanophile, Ciaccio-positive Tröpfchen im Epithel und in den Stromazellen der Mucosa beschreibt. Der Autor beobachtet auch eine gewisse Zyklusabhängigkeit, was von Fredricsson (1957, 1959) bestätigt wird, der sudanophile Tröpfchen hauptsächlich zur Zeit der Lutealphase fand.

2. Kohlenhydrate und Fette im Endometrium

Parallel zu den histologischen Veränderungen während eines Zyklus finden sich auch solche im histochemischen Verhalten des Endometriums.

In den Drüsenzellen ist etwa ab dem zehnten Zyklustag Glykogen in feinsten Tröpfchen nachweisbar. Es erreicht seine höchste Konzentration in der dritten Zykluswoche und

liegt dann basal in Form großer Tropfen(Langhans 1890, Driessensen 1921, Wegelin 1911, Schmidt-Matthiesen 1963).

Die vorwiegend neutralen Mucopolysaccharide liegen um die Zyklusmitte im apikalen Randsaum. Nach der Ablösung in Form von Sekretkappen geben die Mucoide, die die Hauptbestandteile des Sekretes ausmachen eine saure Reaktion (Spyker und Fiedler 1942, Wislocki und Dempsey 1948, Aktinson 1955, Schmidt-Matthiesen 1963).

Auch der Fettgehalt der Zellen unterliegt nach den Untersuchungen Gillmans (1940, 1941) und anderer Autoren zyklischen Veränderungen. In den Drüsenepithelien nehmen die sudanophilen Tröpfchen mit fortschreitendem Zyklus immer mehr zu.

3. Kohlenhydrate und Fette in der Cervix uteri

Im Gegensatz zum endometrialen verhält sich der cervikale Schleim intra- und extrazellulär gleich (Bozzo 1953). Nach älteren Untersuchungen scheint das stark perjodatreaktive, metachromotrope und hyaluronidaseresistente Material der Drüsen fast ausschließlich aus sauren Mucopolysachariden zu bestehen (Dempsey et al. 1947, Wislocki und Dempsey 1948, Runge und Ebner 1954 usw.). In einer neueren Untersuchung von Graumann, Heinke und Siegel (1966) wurden neutrale und saure Mucopolysaccharide variabler Mischung nachgewiesen. Die Autoren betrachten die Varibilität der Schleimstoffe als ein charakteristisches Merkmal der Cervixschleimhaut.

Die Drüsenepithelien der Cervix uteri enthalten kein histochemisch nachweisbares Glykogen.

4. Die Bedeutung des Kohlenhydrat- und Fettgehaltes eines Carcinoms

Der Kohlenhydratstoffwechsel des Carcinoms stand viele Jahre im Mittelpunkt aller Untersuchungen über die Carcinomentstehung. Das gründete sich auf die Beobachtungen Warburgs (1926) vom überwiegend glykolytischen Stoffwechsel

in malignen Tumoren und seine Theorie des Wesens der Krebskrankheit.

Nach biochemischen Untersuchungen von Bernhard (1928) enthalten maligne Tumoren zehn mal mehr Glykogen als benigne. Runge und Ebner (1954) vertreten auf Grund ihrer histochemischen Untersuchungen hingegen die Meinung, daß Glykogen in der Carcinomzelle nur bei Beginn der Degeneration auftrete. Es wird z.B. sowohl die Glykogenvermehrung, wie sie von Bernhard (1928), Kruckenberg (1954) und anderen beschrieben wird, als auch das Fehlen von Glykogen (Schiller 1928), als Zeichen für die von Warburg (1926) beschriebene anerobe Stoffwechselsituation angesehen. Es ist also nach dem heutigen Stand der Untersuchungen nicht möglich, die Ursache für das sehr verschiedene Vorkommen von Glykogen in den Carcinomen zu deuten und Rückschlüsse auf die Stoffwechsellage zu ziehen.

Die Untersuchungen über den Fettgehalt der Carcinome zeigen dagegen sehr einheitliche Ergebnisse. Man kann heute als gesichert annehmen, daß die malignen Tumoren viel Cholesterin enthalten (Butenandt und Dannenberg 1956). Dafür sprechen die histochemischen Untersuchungen von Stoerk (1908), Burgheim (1929) und Chahovitch (1931).

Burgheim (1929) wies mit der Schultz'schen Reaktion nach, daß maligne Tumoren besonders reich an Cholesterin sind. Mit derselben Methode bekam auch Chahovitch (1931) bei fast allen Carcinomen positive Ergebnisse, während sich die benignen Tumoren und die Sarkome negativ verhielten.

Ebenfalls eine Erhöhung des Cholesteringehaltes bzw. des Phospholipidgehaltes fand sich bei den chemischen Analysen von Tumoren (Jovett 1931, Vargas 1932, Yosuda und Loor 1932, Kellner 1935). Szodoray und Spanyar (1933) untersuchten Neoplasmen der Haut, sowohl chemisch als auch histochemisch. Es ergab sich eine Erniedrigung der gebundenen bei einer gleichzeitigen Erhöhung der freien Fette. Diese Erhöhung der freien Fette war besonders am Chole-

steringehalt zu bemerken. Histochemisch lag eine erhöhte Sudanophilie vor.

In einem gewissen Gegensatz zu diesen Ergebnissen stehen die neueren Untersuchungen von Kogel und Mitarbeitern (1960), die zeigen, daß es auch Tumoren mit einem, gegenüber den Normalgeweben, verminderten Cholesteringehalt gibt.

Carruthers und Davis (1961) weisen an Hauttumoren der Maus eine Steigerung des Cholesterin- sowie Phospholipidgehaltes mit Zunahme der Malignität nach.

Einen ähnlichen Zusammenhang sehen Burgheim (1929) und Chahovitch (1931) zwischen der Schultz- positiven Reaktion und der Malignität, während Cathie (1936) und Johnson und Dutch (1952) einen solchen ablehnen.

5. Das Vorkommen von Kohlenhydraten und Lipiden in Ovarialcarcinomen nach bisherigen Beschreibungen.

Trotz der großen Bedeutung des Kohlenhydrat- und Lipidgehaltes für den Tumorstoffwechsel ist überraschenderweise bis heute das Ovarialcarcinom in dieser Richtung noch kaum untersucht worden. Insgesamt wurden 28 Fälle von Ovarialcarcinomen, die auf ihren Gehalt an Polysacchariden geprüft wurden, veröffentlicht.

Von den untersuchten Fällen gehören 20 zu den pseudomucinösen Cystadenocarcinomen und 8, von Numers und Fortelius untersuchte, zu den papillär-serösen Cystadenocarcinomen.

a. papillär-seröses Cystadenocarcinom

Die von v. Numers und Fortelius (1963) an 8 Fällen durchgeführte Toluidinblaumetachromasie ergab freies metachromotropes Material im Papillenstroma. Dieses ist im Vergleich zu benignen Formen vermehrt. Weiter färbten sich neben dem Cysteninhalt auch die Sekretvakuolen in den Tumorzellen metachromatisch an. Die Autoren glauben, obwohl es sich um keine histochemische, noch viel weniger spezifische Farbreaktion handelt, daß die Metachromasie im Papillenstroma

durch freie Polysaccharide hervorgerufen wird.

b. pseudomucinöses Cystadenocarcinom

Fisher (1954) hat an Hand von 17 sogenannten benignen und 10 malignen, entarteten Pseudomucincystadenomen nachgewiesen, daß die Cystenflüssigkeit, sowie deren intrazellulären Vorstufen, vorwiegend aus sauren Mucopolysacchariden, daneben aber auch in geringen Mengen aus neutralen Mucopolysacchariden, sowie Glyko- und Mucoproteiden besteht. Für diese Neoplasmen ist nach Fisher die Bezeichnung Mucincystadenom korrekter. Das weniger häufige Vorkommen der Reaktionen in den Epithelzellen der 10 maligne entarteten Cystadenome deutet auf eine strenge Beziehung zwischen der morphologischen und chemischen Entdifferenzierung hin. Zu ähnlichen Ergebnissen kam auch Zilliacus (1951), der an 5 Fällen von pseudomucinösen Cystadenocarcinomen eine Parallelität zwischen abnehmender Perjodatreaktivität und maligner Entartung der Zellen findet. Als besonderes Phänomen beschreibt er die positive Reaktion des Cystenschleimes bei vollkommen negativ reagierenden Cystenepithelzellen.

Auch Remotti (1955) stellte auf Grund der Untersuchungen an 35 adenomatösen Eierstocksgewächsen ein allmähliches Verschwinden der Perjodatreaktivität in den Zellen beim Übergang zur Malignität fest. Er glaubt aber, daß es bei dem Vorgang der Entdifferenzierung Zwischenstufen gebe, bei denen es trotz schon erfolgter carcinomatöser Entartung noch möglich sei, perjodatreaktives Material nachzuweisen.

Untersuchungen über den Glykogengehalt von Ovarialcarcinomen sind außer der von Pick (1901), der mit der Jodreaktion unter anderem auch in einem Adenocarcinom ein reichliches Vorkommen von Glykogen beobachtet haben will, keine bekannt.

An Untersuchungen über den Fettgehalt von Ovarialcarcinomen liegt unseres Wissens nur die Arbeit von Soiva und Castrén (1963) vor. Die Autoren analysierten das Fett aus Proben von sechs Ovarialtumoren mit biochemischen Methoden.

In allen Proben finden sich freies Cholesterin, Triglyceride und Sterolester. Die Menge der Fettsäuren in den Fetten der Ovarialtumoren wechselt sehr stark.

Totaler Fettgehalt von Ovarialtumoren nach Soiva und Castrén

Histologische Diagnose	mg / 100 ml
Cystadenoma serosum papill. malignum	58,9
Cystadenoma serosum pseudomucinosum	57,2
Cystadenoma serosum simplex	50,0
Cystadenoma dermoides	80790, 0
Adenocarcinoma	44,5
Cystadenoma serosum papill.	100,0

Literaturübersicht

Autor	Fälle	Durchgef. Reaktionen	Carcinom-Zellen	Stroma	Zysten-schleim
PICK 1901	1 Adeno-carcinom	Jod u. Jod-Diast.	+++		
ZILLIACUS 1952	5 pseudo-muc.-Cysta-denocarci-nome	PAS u. Diast.-PAS	+ (-)		+
v. NUMERS u. FORTE-LIUS 1954	8 seröse Cystadeno-carcinome	Toluidinblau	+ (++)	+ (++)	+
FISHER 1954	10 pseudo-muc.-Cysta-denocarci-nome	PAS ± Diast. PAS ± Hyalur.	+ (-)		+
REMOTTI 1955					
GESTALDI 1955	3 pseudo-muc.Cysta-denocarci-nome	PAS Alcianblau Fuchsinald. Toluidinblau Mucicarmin			
WYNN 1962	1 pseudo-muc.Cysta-denocarci-nom	PAS Alcianblau Toluidinblau Mucihematin	keine Angaben		++

B. F R A G E S T E L L U N G

In dieser Untersuchung soll der Versuch gemacht werden, zu klären, ob zwischen Histochemie, Morphologie und Klinik des Ovarialcarcinoms Beziehungen vorhanden sind und welche Folgerungen daraus gezogen werden können.

Folgenden Fragen muß daher nachgegangen werden:

1. Lassen sich mit histochemischen Methoden Kohlenhydrate und Fette im Ovarialcarcinom nachweisen?
2. Wo sind diese Stoffe lokalisiert?
3. Unterscheiden sich die einzelnen Carcinome in ihrem histologischen Typ nach Vorkommen und Verteilung von Kohlenhydraten und Fetten?
4. Ist das Kohlenhydrat- und Fettvorkommen vom Ausbreitungsstadium oder Alter der Tumorträgerin abhängig?

C. UNTERSUCHUNGSMATERIAL

Das Untersuchungsmaterial stammt aus der Universitäts-Frauenklinik Tübingen. Insgesamt wurden 31 Excisionen aus 29 unbehandelten Ovarialcarcinomen oder deren Metastasen untersucht. Es handelt sich ausschließlich um Operationsmaterial. Von den 29 Carcinomen wurden 14 als papillär-seröse, 2 als mucinöse Cystadenocarcinome, 5 als endometrioide Carcinome, sowie 8 als undifferenzierte Ovarialcarcinome eingestuft. Von den Excisionen stammen 22 direkt aus dem Ovarialtumor, während die restlichen 9 aus Metastasen im Netz oder der Serosa entnommen wurden.

Klinik

Die klinischen Daten wurden den Krankengeschichten entnommen. Außer einer 19 und einer 39jährigen waren die Patientinnen alle über 40 Jahre alt, als sie zur Erstbehandlung kamen. Es ergibt sich für dieses Patientengut ein Durchschnittsalter von 58,0 Jahren. Zum Zeitpunkt der Untersuchung lebten noch 8 Frauen.

Die Tumoranamnese ist meist kurz. In 9 Fällen ist sie nicht länger als 14 Tage und in 4 reicht sie nur bis zu einem Monat zurück. Eine einzige Patientin gibt Beschwerden seit über einem Jahr an. Die Stadieneinteilung erfolgte nach der seit 1965 verbindlichen Einteilung der Internationalen Foederation für Gynäkologie und Geburtshilfe (FIGO) (Kottmeier 1965).

Histologie

Das papillär-seröse Cystadenocarcinom

Die hochdifferenzierten papillär-serösen Cystadenocarcinome (5 Fälle) gleichen in ihrem Aufbau noch nahezu dem benignen Cystadenom. Häufig sind sie nur an dem atypischen Epithel mit größeren mehr oder weniger abgerundeten Zellen, die in der Regel mehrere Zellreihen bilden zu erkennen.

Ganz vereinzelt findet man eine Infiltration in das lockere Bindegewebe.

Der Aufbau der mittelmäßig differenzierten Carcinome (3 Fälle) weist schon augenfälligere Unterschiede auf. Es bietet sich ein wirres papilläres Bild mit einem vollkommen anaplastischen Epithel, das vereinzelt auch schon solide Partien bildet. Das Bindegewebe ist locker oedematös mit teilweise dichteren, faserreicheren Zonen im Bereich der Carcinomnester.

Die dritte Gruppe bilden die entdifferenzierten, solidwachsenden papillär-serösen Cystadenocarcinome (6 Fälle). Das Zellbild ist sehr polymorph mit vielen atypischen Mitosen. Im dichten Bindegewebe findet man häufig nekrotische und hyaline Veränderungen.

Sieben Carcinome enthalten Kalkkonkremente. Sie liegen im Bindegewebe, am Rande oder innerhalb von Zellverbänden. Meist sind sie in Nestern zusammengelagert. Diese von Virchow als Psammomkörner bezeichnete Kalkablagerungen entstehen aus Blutgefäßen, Bindegewebe bzw. Bindegewebszellen und aus Epithel- und Carcinomzellen. Chemisch setzen sie sich aus Calciumkarbonat, Calciumphosphat und Magnesium zusammen (Werner 1937).

Während Savor (1902) in ihnen ein Zeichen für den gutartigen Charakter des Tumors sieht, vertritt Koch (1911) gerade die entgegengesetzte Auffassung. Er glaubt nämlich, daß es sich um besonders maligne Tumoren handelt.

Das mucinöse Cystadenocarcinom

Die Schnitte aus dem mitteldifferenzierten Carcinom zeigen ein sehr unregelmässiges, papilläres Wachstum. Die Zellen sind zylindrisch mit basal liegendem Kern oder aber abgerundet. Sie liegen in lockerem Bindegewebe.

Die Schnitte des entdifferenzierten mucinösen Cystadenocarcinoms weisen nur noch wenige kleine Carcinomzellnester in einem stark veränderten Bindegewebe auf. Die Lücken in dem verdämmernden Bindegewebe sind mit schleimiger Substanz ausgefüllt.

Das endometrioide Carcinom

Der hochdifferenzierte Tumor (1 Fall) zeigt das typische Bild eines Adenocarcinoms in einem zellreichen endometrioiden Bindegewebe. Die Zellen sind hoch und besitzen meist einen länglichen Kern.

Die mittel differenzierten Carcinome (2 Fälle) weisen schon solide Partien auf. Die Zellen sind unregelmässiger und zeigen eine ausgeprägte Kernpolymorphie.

Die Schnitte aus dem entdifferenzierten Carcinomen (2 Fälle) fallen durch ihre typische Zellordnung auf, wie sie auch beim Adenoacanthom des Uterus gefunden wird. Das Bindegewebe ist uneinheitlich in seinem Aufbau und von Entzündungsherden durchsetzt.

Das undifferenzierte Ovarialcarcinom

In dieser Gruppe wurden alle Tumoren zusammengefaßt, bei denen auf Grund ihres histologischen Aufbaus und der Zellmorphologie keine Zuordnung zu den Tumoren möglich war. Daraus ergibt sich, daß dieses Carcinome kein einheitliches histologisches Bild aufweisen.

Die sehr polymorphen Zellen liegen in kleineren oder größeren Inseln zusammen. Neben vielen Einzelzellnekrosen sind auch sehr häufig vom Zentrum ausgehende Nekrosen festzustellen. Das Bindegewebe, das vom lockeren bis zum dichten und faserreichen reicht, bietet oft degenerative Veränderungen. In zwei Fällen ist eine Verschleimung eingetreten.

Verteilung von Entzündungen und Nekrosen

Innerhalb der 29 Carcinome zeigt sich eine auffällige Verteilung der Entzündung. Die hochdifferenzierten weisen keine oder nur eine geringe Entzündung auf, während bei den entdifferenzierten in der Mehrzahl eine sehr starke Entzündung vorhanden ist. Dasselbe Bild ergibt sich auch bei der Verteilung des nekrotischen Materials. Je entdifferenzierter die Carcinome werden, um so mehr Nekrosen finden sich. Diese liegen sehr häufig im Zentrum der Carcinomzellinseln.

Nr. der Pa.-Kart.	Typ	Material aus	Stadium	Kombin. Tu.	Tumor-anamnese	Uterus-blutungen	Alter	Zyklus	Menarche	Menopause
62/713 (42)	4	Ov.-Tu.	IIIc		14 Tage	ja	40	28/3-4	16	
62/925 (45)	3cIIc	Netz	IIIc		14 Tage	nein	43	28/4-5	11	
62/1491(87)	1cI	Serosa	I	Ca.coli uteri	6-9 Mon.	ja	63	28/3	12	52
63/213 (108)	1cI	Ov.-Tu.	Ib		6-9Mon.	nein	61	26-28/6-8	16	51
63/227 (109)	4	Ov.-Tu.	IIb		14 Tage	nein	72	28-30/2-3	13	57
63/342 (113)	1cIc	Ov.-Tu.	III		1 Mon.	nein	71	28/2-3	18	57
62/1176(114)	4	Netz	IV		3o Tage	nein	57	5-6/7-8	15	57
63/525 (122)	1cI	Ov.-Tu.	IIc		3o Tage	ja	39	28/3	16	
63/566 (123)	4	Ov.-Tu.	III		14 Tage	nein	19	30-31/7	11	
63/549 (124)	1cIIc	Ov.-Tu.	IIc			ja	48	28-29/3-4	15	
63/575 (125)	1cIIc	Ov.-Tu.	IIb		3o Tage	nein	45	28/3-4	14	
63/655 (132)	4	Netz	IV		14 Tage	nein	75	28/7-8	14	56
63/974 (141)	1cIIc	Ov.-Tu.	IIc		1-3 Mon.	nein	63	28-30/3-4	17	42
63/1012(163)	1cIIc	Netz	IIc		14 Tage	nein	64	28-30/4-5	15	55
63/1060(164)	3cIc	Ov.-Tu.	V				78			
63/372 (173)	4	Ov.-Tu.	Ic		3-6 Mon.	nein	46	28/3	13	
64/103 (195)	3cII	Ov.-Tu.	II	Ca.corp. uteri	1-2 Jahre	ja	56	27-29/3-4	18	52
64/458 (220)	1cIc	Ov.-Tu.	III		1-3 Mon.	nein	63	28/4-5	12	44
64/183 (222)	1cI	Ov.-Tu.	I		6 Wochen	nein	60	28/4	15	54
64/545 (227)	1cII	Ov.-Tu.	IIc		6 Monate	nein		28-30/4-5	15	
64/666 (241)	4	Netz	III	Ca.corp. uteri	14 Tage	ja	67	28/4-5	18	58
64/695 (242)	1cIIc	Bauchwand	IIc		14 Tage	nein	62	27-29/3-4	17	54
64/282 (253)	3cI	Ov.-Tu.	IIb		6-9 Mon.	ja	68	28/3-4	16	42
64/282 (256)	1cI	Ov.-Tu.	IIb		6 Monate	nein	66	28/4	12	40
64/810 (257)	2cIIc	Ov.-Tu.	IV		3 Monate	nein	57		16	45
64/1057(272)	3cIIc	Ov.-Tu.	Ia		1 Jahr	nein	79		17	51
63/1087(273)	4	Netz	IIIc		14 Tage	nein	57	28/4-5	14	53
64/1093(276)	1cIII	Ov.-Tu.	IIc		6 Wochen	nein	48	28-30/4	16	
65/1707(323)	2cII	Ov.-Tu.	I		4 Wochen	nein	62		17	47

D. METHODIK

1. Schneideverfahren

Die Untersuchungen wurden zum größten Teil an frischen bzw. nachfixierten Kryostatschnitten, zum kleineren Teil an Paraffinschnitten vorgenommen. Sie wurden in dem von Dittes und Duspiva angegebenen Kryostaten gewonnen. Aus folgenden Gründen bevorzugten wir Kryostatschnitte:

a. das Operationsmaterial kann sofort durch Tiefgefrieren fixiert werden, so daß es zu keinen wesentlichen Gewebsveränderungen kommt;

b. das Material kann ohne die bei anderen Schneideverfahren notwendigen Vorbehandlungen geschnitten und die Schnitte sowohl frisch, als auch nachfixiert den histochemischen Reaktionen unterworfen werden. Es wird dadurch die Möglichkeit ausgeschaltet, daß durch das Fixieren und Einbetten Stoffe aus dem Material herausgelöst oder verlagert werden.

c. ein weiterer Vorteil ist das leichte Herstellen von Serienschnitten, die es erlauben, einzelne Reaktionen miteinander zu vergleichen. Vor allem zeigt sich das bei der gleichzeitigen Untersuchung von Stoffen, die wasserlöslich und bei Stoffen, die alkohollöslich sind.

2. Fixierungsmittel

Es kamen 4% Formalin und 70% Äthanol zur Verwendung. Das 4%ige Formalin wurde zur Fixierung des auf Lipide zu untersuchenden Materials verwendet. Es fixiert die Lipide nicht, wie von vielen Untersuchern zuerst angenommen wurde, sondern verhält sich ihnen gegenüber neutral. Die Fixierung ist homogen. Formalin reagiert mit den Aminogruppen der Proteine, fällt sie aber nicht aus.

Mit 70% Äthanol wurde das Material zur Untersuchung auf Kohlenhydrate fixiert. Neben dem wasserentziehenden Effekt besitzt es auch noch die Eigenschaft, die Proteine zu fällen. Das Glykogen wird vom Äthanol wohl gefällt, aber nicht fixiert, sodaß es seine Wasserlöslichkeit behält.

3. Histochemische Reaktionen zum Nachweis von Kohlenhydraten

Glykogennachweis nach Best (1906):

Die Färbung wurde nach der von Pearse (1960) angegebenen Methode durchgeführt. Es handelt sich um eine empirisch gefundene Methode, bei der mit einer ammonialkalischen Carminlösung Glykogen, das sich rot anfärbt, nachgewiesen wird. Der Reaktionsmechanismus ist bis heute noch nicht ganz klar. Pearse nimmt ebenso wie Baker an, daß das aktive Prinzip der ammonialkalischen Carminlösung die Carminsäure sei, die im alkalischen Bereich negativ geladen sein soll und sich dadurch wie ein saurer Farbstoff verhalten würde. Der Färbevorgang des Glykogens scheint von physikalischen und stereochemischen Faktoren abhängig zu sein.

PAS-Reaktion nach McManus und Hotchkiss:

Dabei werden die durch Perjodsäure zu Aldehyden oxydierten 1-2 Glykolgruppen mit dem Schiff'schen Reagenz nachgewiesen.

Nach den Ergebnissen von Malaprade (1928) müssen als chemisches Substrat der Perjodsäureoxydation vor allem die L - Glykole angesehen werden. Außerdem werden aber auch Carbonylverbindungen oxydiert, wobei diese Reaktion über die Hydratform des Carbonyls erfolgt. Die purpurrote Farbe nach anschließender Behandlung mit fuchsinschwefliger Säure entsteht nach Untersuchungen von Oster und Oster (1946), sowie von Danielli (1949) durch die entstandenen Aldehydgruppen. Dies bedeutet, daß die Perjodsäure unter entsprechenden Verhältnissen die Aldehydgruppen nicht weiter zu Carboxylgruppen oxydiert. Die im histologischen Schnitt

PAS-positiven Stoffklassen sind nach Pearse (1960):

a. Polysaccharide (Glykogen)
b. saure Mucopolysaccharide (Hyaluronsäure, Chondroitinschwefelsäure, Heparin)
c. neutrale Mucopolysaccharide (Muco- und Glykoproteide)
d. Glyko- und Phospholipide

Nach Untersuchungen von Leblond (1951) und Mitarbeitern geben aber in Gewebsschnitten, außer Glykogen, nur die mit Eiweiß verbundenen Kohlenhydrate eine PAS-positive Reaktion. Hierzu gehören die neutralen Mucopolysaccharide, sowie die Muco- und Glykoproteide. Die sauren Mucopolysaccharide geben in reinem Zustand keine PAS-Reaktion!

Um nun die mit der PAS-Technik dargestellten Stoffe in Glykogen, saure und neutrale Mucopolysaccharide aufteilen zu können, kamen noch folgende andere Methoden zur Anwendung.

Diastase-PAS:

Nach vorhergehender 1/2 stündiger Behandlung eines alkoholisch fixierten Schnittes bei 37° C in einer Diastaselösung, wurde derselbe zusammen mit einem unbehandelten Schnitt mit der PAS-Reaktion gefärbt.

Alcianblau:

Durchgeführt wurde die Färbung nach der Vorschrift von Mowry (1956) in einer 0,1 %igen Alcianblaulösung, in 3%iger Essigsäure mit Chlorantinrot als Gegenfärbung zur Darstellung der sauren Komponenten, sowie in Kombination mit der PAS-Technik zur Darstellung der sauren sowie neutralen Mucopolysaccharide.

Steedman (1950) führte den Farbstoff Alcianblau aus der Gruppe der Kupferphthalocyaninfarbstoffe als spezifisch für Mucin ein. Der Farbstoff färbt sowohl die Chondroitinschwefelsäure als auch die Mucoitinschwefelsäurekomplexe an, d.h. sowohl Knorpel als auch der Schleim färben sich an. Ein Nachteil des Färbeverfahrens ist, daß mit kurzen Färbezeiten gearbeitet werden muß, um die Spezifität der

Reaktion nicht zu beeinflussen, denn nach längerer Einwirkung des Farbstoffes werden fast alle Gewebselemente angefärbt.

Astrablau:

Gefärbt wurde nach der von Pioch (1957) angegebenen Methode mit einer 1%igen Astrablaulösung in 1%iger Essigsäure und Kernechtrot als Kernfärbung. sowie in Kombination mit der PAS-Technik.

Der von der Bayer AG für die Färbung mikroskopischer Präparate eingeführte Kupferphthalocyaninfarbstoff wurde von Gedigk (1956) und Pioch (1957) auf seine Brauchbarkeit für die Histochemie geprüft. Ebenso wie das Alcianblau hat auch das Astrablau die Eigenschaft, einfache und komplexe saure Mucopolysaccharide anzufärben. Der neue Farbstoff hat aber nach Pioch (1951) gegenüber dem Alcianblau den Vorteil, daß es auch bei längeren Färbezeiten (bis zu 18 Stunden) nicht zur Anfärbung anderer Gewebselemente kommt. Ein weiterer Vorzug liegt auch in dem tieferen und beständigeren Farbton des Astrablau, der die Auswertung sehr erleichtert.

Toluidinmetachromasie:

Verfahren wurde nach der Standardmethode (Pearse) mit einer 0,5%igen wässrigen Toluidinblaulösung.

Die Toluidinblaufärbung wird von Kiszely und Posalaky (1964) als Hilfsverfahren der Histochemie betrachtet. Pearse (1960) versteht unter der Metachromasie die Anfärbung einer Gewebskomponente derart, daß das Absorptionsspektrum des entstehenden Gewebsfarbkomplexes sich ausreichend von der ursprünglichen Farbe und ebenso von demsich gewöhnlich bildenden Gewebskomplex abhebt, so daß ein guter Farbkontrast entsteht. Übereinkunftsgemäß wird in der Histochemie nur bei den Farbstoffen der Thiazingruppen von Metachromasie gesprochen. Zur Erklärung wurden viele Theorien aufgestellt (Hansen 1908, Pappenheim 1906, Michaelis 1927).

Heute erklärt man sich das Zustandekommen der Metachromasie durch den primären Vorgang der Elektroadsorption zwischen dem chromotropen Anion des Substrates und den basischen

Gruppen des Farbstoffes. Sekundär kommt es dann zur Farbstoffaggregation der parallel liegenden Farbstoffmoleküle durch van der Waal'sche Kräfte. Nach den Untersuchungen Sylvéns (1954) ist eine minimale Ladungsdichte der Oberfläche des Substrates notwendig, um eine stabile Metachromasie zu erhalten.

Sulfatierung nach Moore und Schönberg:

Die Schnitte wurden bei 0° C in ein Gemisch aus gleichen Teilen konzentrierter Schwefelsäure und Eisessig gebracht. Nach mehrmaligem Spülen in Eisessig wurden die Schnitte nach der oben angegebenen Methode mit Toluidinblau gefärbt.

Durch die Einführung von Schwefelsäuregruppen in die neutralen Mucopolysaccharide gelingt es, diese mit Hilfe der Toluidinmetachromasie ebenfalls darzustellen. Die von Moore und Schönberg angegebene Methode hat den Vorteil, daß keine Gewebszerstörung stattfindet und der Eisessig nicht mit den Kohlenhydraten reagiert.

In den folgenden Untersuchungen haben wir als "Glykogen" bezeichnet, wenn das bei der PAS-Reaktion positive Material diastaseverdaubar und die Best'sche Carminfärbung positiv war. Als " saure Mucopolysaccharide " haben wir perjodatreaktives, Alcianblau bzw. Astrablau positiv und metachromatisch reagierende Substanzen und als " neutrale Mucopolysaccharide" perjodatreaktives, Alcianblau bzw. Astrablau negativ und nach Sulfatierung metachromatisch reagierende Substanzen gedeutet.

4. Histochemische Reaktionen zum Nachweis von Lipoiden

Der Nachweis von Fetten und Lipoiden weist erhebliche methodische Schwierigkeiten auf. Ein großer Teil der auch heute noch üblichen Fettfärbungen basierten auf einem rein physikalischen Vorgang. Für das Zustandekommen der Farbe ist in erster Linie der physikalische Zustand des Lipoids verantwortlich. Da es sich um die Diffusion des Farbstoffes aus dem Lösungsmittel in das denselben besser lösende Fett

handelt, ist es verständlich, daß die lösende Wirkung der nicht oder nur wenig dissoziierenden flüssigen oder halbfesten Lipoide größer ist, als die der festen und kristallinen Verbindungen. Farbstoffe, die für solche Färbungen verwendet werden, sind z.B. die Sudanfarbstoffe, Oelrot, Fettrot 7B, Nilblau usw. Mit Färbungen, die nach diesem Grundprinzip arbeiten, lassen sich natürlich chemisch verschieden zusammengesetzte Lipoide nicht trennen. Weiter ist zu beachten, daß die für die Farbstoffe verwendeten Lösungsmittel zwei nicht leicht zu erfüllenden Anforderungen entsprechen müssen. Sie sollen erstens den Fettfarbstoff gut lösen, damit seine Penetration genügend stark ist, gleichzeitig aber im Idealfall keine lipoidlöslichen Eigenschaften besitzen. Folgende Möglichkeiten sind gegeben (vgl. auch Kiszely und Pósalaky):

a. Einfache (molekulare) Lösungen:

Die Färbung erfolgt mit einer echten Lösung des Lipidfarbstoffes. Die Schwierigkeit liegt darin, daß die Solventien selbst fettlöslich sind, wodurch nicht zu vermeiden ist, daß feinste Lipidtröpfchen herausgelöst werden. Verwendet werden 70% Äthanol, das Herxheimer'sche Gemisch (gleiche Teile Aceton und 70% Äthanol) und Propylenalkohol. (Kiszely und Pósalaky haben damit gute Ergebnisse bei Sudanschwarz B erhalten.)

b. Kolloidale Lösungen:

Durch Verminderung der Lösungsmittelkonzentration erhält man anstelle der echten, kolloidale Lösungen. Man wollte damit die fettlösende Wirkung des Lösungsmittels herabsetzen. Bei dieser Methode können nur einige wenige Farbstoffe verwendet werden. Weitere Nachteile sind auch die schlechte Penetration des Farbstoffes und häufige, störende Niederschläge.

c. Farbstoffgemische:

Durch Verwendung unabhängig voneinander in dem Lösungsmittel löslicher Farbstoffe, wie z.B. der Sudanfarben, steht zur Auflösung in den Lipiden eine höhere Konzentration

zur Verfügung, d.h. die Färbezeiten können verkürzt werden.

d. Hydrotrope Lösungen:

Die schwer wasserlöslichen Fettfarbstoffe werden in wässrigen Lösungen hydrotroper Verbindungen wie Seifen, Saponine, Coffein usw. gelöst. Der Nachteil bei der Färbung ist, daß ein Teil dieser hydrotropen Stoffe das Gewebseiweiß fällt und es zu erheblichen Deformierungen und Schrumpfungen kommt.

Sudanschwarz B:

Angewendet wurde die von Baker und McManus (1945) angegebene Technik. Dabei wird für die von Lison und Dagnelie (1935) in die Histochemie eingeführte Farbe 70% Äthanol als Lösungsmittel verwendet. Der Farbstoff ist besonders gut löslich in Phospholipiden und etwas weniger gut in den Cerebrosiden. Nach Pearse (1960) ist die Sudanschwarz B - Technik nicht spezifisch für Phosphatide. Beim Ausschluß von Neutralfetten sind sie aber die am häufigsten angefärbten Fette.

In letzter Zeit wurde von einigen Autoren (Lennert und Weitzel 1952, Diezel und Neimanis 1957) erwähnt, daß bei der Färbung mit Sudanschwarz B der Metachromasie ähnliche Farbänderungen zu beobachten sind. Das Zustandekommen dieser Farbänderungen und ihr Aussagewert muß aber erst noch weiter geklärt werden.

Nilblaufärbung nach Cain (1947):

Zur Verwendung kamen eine 1%ige sowie eine 0,02%ige wässrige Nilblaulösung, in denen bei 60°C die Schnitte gefärbt wurden. Differenziert wurde kurz in 1%iger Essigsäure.

Die von Lorrain und Smith (1908) angegebene und von Cain (1947) verbesserte Methode färbt die neutralen Lipide (Triglyceride, Wachse, Cholesterinester, einzelne höhere Alkohole bzw. kohlenhydrathaltige Lipide) rot an. Die sauren oder Cain'schen Lipide (Fettsäuren, Chromlipide, Phosphatide, Cerebroside färben sich blau. Diese Methode beruht nur teilweise auf der Diffusion des Farbstoffes aus dem Lösungsmittel in das Lipoid. Gewisse Komponenten des Nilblaus binden sich mit den einzelnen Lipiden auch auf chemischem Wege. Die Nilblausulfatlösung enthält folgende drei

Komponenten, die durch Hydrolyse mit Schwefelsäure entstehen: (1) Das Salz, also das Sulfat des Nilblau-Oxazins, das blau ist, sich in Fett nicht löst und mit den Fettsäuren reagiert. (2) Die freie Base des Nilblau-Oxazins mit roter Farbe und guter Löslichkeit in Fetten. (3) Das ebenfalls rotgefärbte und in Fetten gut lösliche Oxazonderivat (Nilrot). Da die Färbewirkung der freien Base sehr gering ist, kann sie vernachlässigt werden. Zusammen mit einem Sudanschwarz B-Schnitt lassen sich mit dieser Methode saure und neutrale Lipide differenzieren. Pearse (1960) hält sie unter bestimmten Umständen für eine brauchbare Methode.

Scharlachrotfärbung zum Nachweis der Neutralfette:

Die kurz in 50% Alkohol vorbehandelten Schnitte wurden in der Aceton-Scharlachlösung nach Herxheimer (1901) gefärbt. Als Kerngegenfärbung diente Haemalaun. Es handelt sich wiederum um eine rein physikalische Färbemethode. Nach den Untersuchungen von Lennert und Weitzel (1952) ist die Färbebreite des Scharlach-R sehr gering. Die Autoren studierten die Färbbarkeit homologer Reihen von Fettsäuren und ihren Äthylestern sowie von Alkoholen und Kohlenwasserstoffen mit Fettfarbstoffen auf Filtrierpapier und in Holundermark. Sie kommen bei ihren Untersuchungen zu dem Ergebnis, daß die Färbebreite der Farbstoffe vom Nilblau über das Sudanschwarz B zum Scharlachrot hin abnimmt. Vom letzteren Farbstoff werden fast ausschließlich nur Fettsäureester bzw. Glyzeride angefärbt.

Nachweis des freien und veresterten Cholesterins (nach Schnabel 1964)

Zum Nachweis des freien und veresterten Cholesterins werden die Schnitte 3-4 Tage bei 37°C in eine 2,5%ige Eisenalaunlösung gebracht. Nachdem sie gut abgetrocknet sind, wird ein Tropfen eines auf 4°C gekühlten Gemisches aus Eisessig und konzentrierter Schwefelsäure (1:1) aufgebracht und sofort mikroskopiert. Zum Nachweis des Estercholesterins werden die Schnitte, bevor sie in die Eisenalaunlösung kommen 3 Stunden bei Zimmertemperatur mit 0,5%iger Digitonin-

lösung in Alkohol behandelt.

Die von Schultz für die Histochemie variierte Liebermann-Burchardt'sche Reaktion wird von Pearse (1960) als höchst, aber nicht absolut spezifisch angesehen.

Bei der Schultz'schen Reaktion (Schultz 1924/25) färben sich die durch das Eisenalaun katalysierten chromogenen Autoxydationsprodukte des freien und veresterten Cholesterins nach Zugabe des Eisessig-Schwefelsäuregemisches blaugrün an. Mit dem Feigin'schen Verfahren (Feigin 1956), das von R. Schnabel (1964) modifiziert wurde, läßt sich das veresterte Cholesterin von der freien Fraktion trennen. Dazu dient der nach Digitoninbehandlung auftretende Verlust der prompten Oxydierbarkeit des als Digitonid gebundenen freien Cholesterins. Über die Sensibilität der Methode ist noch wenig bekannt. Bekannt ist aber, daß sich neben dem Cholesterin auch 7-Dehydrocholesterin, Karotin und Ergosterin grün anfärben.

E. ERGEBNISSE

Verteilung der Kohlenhydrate und Lipide in Ovarialcarcinomen

Das hochdifferenzierte papillär-seröse Cystadenocarcinom

Die hoch- und mittelgradig differenzierten Carcinome werden hier gemeinsam besprochen, da siw bei den Untersuchungen keine Unterscheidung zeigten.

In den cystischen Bereichen der Carcinome zeigen die Epithelzellen perjodatreaktive Granula. Bei den nur schwach reagierenden Zellen liegen die Granula basal, während sie sich mit zunehmender Reaktionsstärke in der ganzen Zelle finden, um sich schließlich in den sich etwas vorstülpenden apikalen Teil der Zelle zu konzentrieren. Die PAS-Reaktion fällt in diesen vacuoligen Gebilden homogen aus, es läßt sich keine Granula mehr differenzieren. Das perjodat-positive Material färbt sich mit Alcianblau-PAS bzw. Astrablau-PAS fast ausschließlich rot an. Nur in den Zellen mit vacuoligen Vorstülpungen verschiebt sich die Anfärbbarkeit von rot zu blaurot hin. Weiter stellt sich bei allen an das Lumen grenzenden Zellen ein feiner blauer Streifen an der apikalen Zellmembran dar. Die Cystenflüssigkeit zeigt ebenfalls eine blaurote Reaktion. Mit Toluidinblau sind ein Teil der Zellen und des Sekrets metachromatisch. Die Metachromasie läßt sich durch eine vorausgehende Sulfatierung in den Zellen verstärken.

Die papillär gebauten Bezirke weisen größere, vollkommen perjodatnegative Gebiete auf. In den positiven verhalten sich die Zellen wie innerhalb der cystischen Abschnitte. Sie enthalten ebenfalls perjodat-positive Granula, die nur in geringem Grade Alcianblau positiv sind. Daneben finden sich noch etwas größere, abgerundete Zellen im Epithel verstreut, deren Cytoplasma homogen perjodatreaktiv ist.

In einem von 3 untersuchten Fällen wurde auch ein positiver Ausfall der Best'schen Carminfärbung sowie der Dia-

stase-PAS-Reaktion im Epithel beobachtet. In besonders stark perjodatreaktiven Bezirken färbt sich apikal gelegene Granula mit der Carminfärbung rot an.

Der positive Ausfall der Best'schen Carminfärbung in den stark perjodatpositiven Epithelzellen Läßt nach den Beobachtungen Lillies (1949) nicht mit Sicherheit auf Glykogen schließen. Der Autor beobachtete, daß der epitheliale Schleim von Carcinomen besonders stark perjodatreaktiv sein kann, und daß sich in solchen schleimbildenden Zellen kristallartige, Best- positive Bildungen finden, die er als Sekretkonzentrate ansieht. Diese von Lillies (1949) gemachte Beobachtung ist bei unseren Befunden nicht immer sicher auszuschließen.

Die in den hochdifferenzierten Cystadenocarcinomen nur sehr selten zu findenden soliden Partien, verhalten sich in der Mehrzahl der Fälle perjodatnegativ, nur in 2 Fällen wurde eine homogene Anfärbung dieser soliden Zellhaufen mit der PAS-Reaktion beobachtet. Dieses Material verhält sich Alcianblau-negativ und ergibt auch keine Metachromasie.

Der Gehalt der Zellen an Fetten ist einheitlich, sowohl in Bezug auf die 8 untersuchten Fälle, als auch im einzelnen Tumor. Die Zellen der cystischen, papillären und soliden Partien weisen alle eine feine sudanophile Granula auf, die gleichmäßig über das ganze Cytoplasma verstreut ist. Mit der Nilblaufärbung läßt sich entsprechende Granula in den Zellen rot anfärben.

Die Nekrosen zeigen eine ziegelrote Anfärbung mit der PAS-Reaktion, reagieren aber Alcianblau- negativ. Mit den Fettfärbungen stellen sich grobe sudanophile, mit Nilblau rot reagierende Tröpfchen dar. Die direkt um die Nekrosen gelegenen Carcinomzellen weisen einen vermehrten Gehalt an gröberer sudanophiler Granula auf.

Das in einem Teil der Papillen zu findende sehr zell- und faserarme Bindegewebe verhält sich vollkommen negativ bei den hier durchgeführten Färbungen. Das übrige Bindegewebe, das vorwiegend locker gebaut ist und nur in den grossen Faserzügen eine straffere Struktur aufweist, reagiert

im Bereich von Infiltrationsstellen mit PAS und Alcianblau positiv. Es färben sich nur die Fasern an, während sich die Zellen negativ verhalten. Hyalinisierungen sind im PAS-Schnitt homogen ziegelrot, Während die Kalkkonkremente eine leuchtend purpurrote Farbe annehmen. Mit Alcianblau-PAS zeigen letztere eine zirkuläre abwechselnd blaue und rote Anfärbung.

Das zell- und faserarme Bindegewebe der Papillen hat keinen nachweisbaren Fettgehalt. Im übrigen Bindegewebe findet sich immer wieder fleckförmig sudanophiles Material. Der in 3 Fällen durchgeführte Cholesterinnachweis von Schnabel (1964) ergibt zweimal ebenfalls in diesen Bindegewebszonen eine positive Reaktion.

Das morphologische Substrat zu diesen histochemischen Befunden sind im Bindegewebe liegende Zellelemente mit elliptischen und polygonalen Kernen. Die Zellen liegen bevorzugt in kleineren Gruppen im Bindegewebe direkt um die Carcinomzellinseln.

Das entdifferenzierte papillär- seröse Cystadenocarcinom

Das histochemische Bild der 7 untersuchten Carcinome ist nicht mehr ganz so einheitlich wie bei den höher differenzierten Tumoren.

Bei der PAS-Reaktion zeigen die Zellen einen sehr unterschiedlichen Gehalt an positiv reagierendem Material im gleichen Carcinom. Die etwas gröber erscheinende Granula liegt im ganzen Cytoplasma der Zellen verstreut. In fast allen Fällen findet sich eine runde intraepitheliale Hohlraumbildung. Die angrenzenden Zellen zeigen einen schmalen perjodatreaktiven Saum. Dieser, sowie das in den Hohlräumen zu findende Material verhält sich Alcianblau-positiv. Bei letzterem färbt sich das perjodatreaktive Zentrum häufig nicht blau an.

In einem Carcinom mit besonders stark perjodatpositiven Inseln bringt auch die Best'sche Carminfärbung positive Ergebnisse, die sich aber mit der Diastase-PAS-Reaktion

nicht mit Sicherheit reproduzieren lassen.

Mit den Fettfärbungen kann man in den Carcinomzellen eine sudanophile Granula darstellen, die im nilblaugefärbten Schnitt rot ist. In den Nekrosen einzelner Zellen oder auch ganzer Zellbezirke ist neben perjodatreaktivem auch vermehrt sudanophiles Material zu finden.

Die Bindegewebsfasern sind Alcianblau-positiv, während sich die häufig zu findenden Hyalisierungen nur bei der PAS-Reaktion homogen anfärben. Bei 2 Tumoren kann man eine Durchtränkung des Bindegewebes mit einer schleimigen, perjodatreaktiven Flüssigkeit beobachten, die wohl von untergegangenen Carcinomzellen herrührt.

Im Bindegewebe von einem hoch- und 2 entdifferenzierten papillär-serösen Cystadenocarcinomen fanden sich große Zellen mit einem schaumigen, wabig strukturierten Cytoplasma, das einen gleichmäßigen Gehalt an PAS-positivem Material aufweist. Dieses ist diastaseresistent und gibt auch mit Alcianblau sowie Astrablau keine Reaktion. Die sehr zahlreiche sudanophile Granula ist in der ganzen Zelle verstreut. Die in 2 Fällen durchgeführte Feigin'sche Reaktion auf Cholesterin fiel positiv aus.

Die Probeexcisionen wurden in allen 3 Fällen direkt aus dem Ovarialtumor entnommen.

hochdiff. papillär-seröses Cystadenocarcinom x)

Nr.	Glykogen Epithel Best	Glykogen Epithel D.-PAS	Glykogen Stroma Best	Glykogen Stroma D.-PAS	saure MPS Epi. Alcianblau-PAS, Astrablau-PAS, (Toluidinblau)	saure MPS Str.	saure MPS Zyst.-Fl.	neutr. MPS Epi.	neutr. MPS Str.	neutr. MPS Zyst.-Fl.	Fette Epithel SSB	Fette Epithel NB	Fette Epithel Sch.-R.	Fette Stroma SSB	Fette Stroma NB	Fette Stroma Sch.-R.
87					+	-	+	+	-	+	-			+		
108					+	-	-	+	-	-	+			+		
113					+	-	-	+	-	-	+			-		
122a					+	+	-	+	-	-	+			-		
220					-	-	-	+	-	-	-	-		+	+	
222	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+		+	-	
227	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	+	+		+	+	
256a	+		-		+	+	+	+	-	-	+	+		-	-	
256b		-		-	+	-	+	-	-	+	+			+		

entdiff. papillär-seröses Cystadenocarcinom x)

Nr.	Glykogen Epithel Best	Glykogen Epithel D.-PAS	Glykogen Stroma Best	Glykogen Stroma D.-PAS	saure MPS Epi. Alcianblau-PAS, Astrablau-PAS, (Toluidinblau)	saure MPS Str.	saure MPS Zyst.-Fl.	neutr. MPS Epi.	neutr. MPS Str.	neutr. MPS Zyst.-Fl.	Fette Epithel SSB	Fette Epithel NB	Fette Epithel Sch.-R.	Fette Stroma SSB	Fette Stroma NB	Fette Stroma Sch.-R.
122b					+	+	-	+	-	-	+		+	-		-
124					-	-	-	-	-	+	-		-	-		-
125					-	-	-	-	-	+						
141					-	-	-	+	-	-	-			-		
163	-		-		-	-	-	+	-	-						
242	+	-	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+		-	-	
276		-		-	-	-	-	-	-	-	+			-		

x) Erklärung der Abkürzungen s. S.37

Das mucinöse Cystadenocarcinom

Die 2 hier untersuchten Fälle sind unterschiedlich differenziert. In den abgerundeten polymorphen Zellen des mittelgradig differenzierten Carcinoms finden wir nur wenige perjodatpositive Bezirke. Die perjodatpositive Granula ist teilweise nur apikal gelegen, teilweise aber auch über das ganze Cytoplasma verstreut. Diese färbt sich ebenso wie die in den Lumina liegende fädige Flüssigkeit mit Alcianblau- bzw. Astrablau an und ist metachromotrop. Die perjodatnegativen Gebilde weisen aber teilweise in ihren Lumina perjodatpositives Sekret auf.

Ganz anders verhalten sich hingegen die solid wachsenden Zellen des entdifferenzierten Cystadenocarcinoms. Hier wird im ganzen Cytoplasma perjodatreaktives Material gespeichert. Dieses ist Alcianblau-positiv und metachromotrop. Beim Untergang der Zellen wird es freigesetzt und durchtränkt das ganze Bindegewebe.

Das ödematöse, lockere Bindegewebe des mittelgradig differenzierten Carcinoms gibt weder mit den Kohlenhydrat- noch mit den Fettfärbungen eine Reaktion. Das verdämmernde Bindegewebe des entdifferenzierten Cystadenocarcinoms ist vollkommen mit perjodatpositivem Schleim durchtränkt, der wohl beim Zerfall der Carcinomzellinseln frei wurde, In diesen Bezirken findet sich auch frei im Gewebe liegende sudanophile Granula.

Das endometrioide Carcinom

Bei den 5 untersuchten Fällen handelte es sich um ein hoch-, 2 mittel und 2 entdifferenzierte Carcinome.

Die Zellen des hochdifferenzierten Carcinoms enthalten perjodatreaktive Granula, die im ganzen Cytoplasma verstreut liegt, oder aber nur im apikalen Bereich zu finden ist. Diese färbt sich mit Alcianblau-bzw. Astrablau nur zu einem geringen Teil an und zeigt auch nur eine geringe Metachromotropie. Mit Sudanschwarz B lässt sich eine feine Granula im Cytoplasma nachweisen.

In den drüsig gebauten Teilen der mitteldifferenzierten Carcinome bieten die Zellen dasselbe Bild wie bei dem hochdifferenzierten. In den soliden Partien hingegen findet sich eine erhöhte Anfärbbarkeit mit Alcian- bzw. Astrablau sowie vermehrte Metachromotropie. Das in diesen beiden Fällen nachweisbare perjodatreaktive Sekret ergibt vorwiegend eine mit Alcian- bzw. Astrablau positive Reaktion.

Die Zellen der beiden entdifferenzierten Carcinome zeigen unterschiedliches Verhalten. Neben perjodatpositiven Bezirken finden sich vollkommen negativ reagierende Zellen. Das perjodatreaktive Material färbt sich zu einem Teil mit Alcian- und Astrablau an.

Das Bindegewebe zeigt insgesamt nur eine geringe Perjodatreaktivität, die sich vorwiegend im Bereich von Nekrosen und entzündlichen Infiltrationen lokalisiert.

Das undifferenzierte Ovarialcarcinom

Die 8 undifferenzierten Carcinome bieten ebenso wie in ihrem histologischen Aufbau auch in ihrem histochemischen Verhalten sehr unterschiedliche Bilder. In 3 Carcinomen enthalten die Zellen, über das ganze Cytoplasma verstreut, perjodatpositives Material. In den übrigen zeigen sich nur einzelne über die Tumorinseln verstreut oder am Rande von Nekrosen liegende Zellen, die perjodatreaktive Zelleinschlüsse aufweisen.

Nur in 2 Fällen, in denen die Zellen verschleimen, geben diese eine positive Reaktion auf Alcianblau. Dabei ist auch der durch Zellzerfall frei gewordene Schleim im Bindegewebe Alcianblau-positiv. Sudanophile Granula enthalten die Zellen der beiden verschleimenden Carcinome und die Zellen eines weiteren Carcinoms. In den Nekrosen der perjodatpositiven als auch der perjodatnegativen Carcinome ist immer perjodatreaktives Material zu finden. Das Stroma um Carcinomzellinseln zeigt perjodatpositive Faserzüge, die teilweise Alcianblau-positiv und metachromotrop sind.

mucinöses Cystadenocarcinom x)

Nr.	Glykogen Epithel Best	Glykogen Epithel D.-PAS	Glykogen Stroma Best	Glykogen Stroma D.-PAS	saure MPS Epi.	saure MPS Str.	saure MPS Zyst.-Fl.	neutr. MPS Epi.	neutr. MPS Str.	neutr. MPS Zyst.-Fl.	Fette Epithel SSB	Fette Epithel NB	Fette Epithel Sch.-R.	Fette Stroma SSB	Fette Stroma NB	Fette Stroma Sch.-R.
					Alcianblau-PAS, Astrablau-PAS, (Toluidinblau)											
257					+		+		+		+					
323					+		+	+		+	+					

undifferenziertes Ovarialcarcinom x)

Nr.	Glykogen Epithel Best	Glykogen Epithel D.-PAS	Glykogen Stroma Best	Glykogen Stroma D.-PAS	saure MPS Epi.	saure MPS Str.	saure MPS Zyst.-Fl.	neutr. MPS Epi.	neutr. MPS Str.	neutr. MPS Zyst.-Fl.	Fette Epithel SSB	Fette Epithel NB	Fette Epithel Sch.-R.	Fette Stroma SSB	Fette Stroma NB	Fette Stroma Sch.-R.
					Alcianblau-PAS, Astrablau-PAS, (Toluidinblau)											
42					-	+	-	+	-	-						
109	+		+		+	-	-	+	-	-	+			+		
114					-	-	-	+	+	-	+			-		
123	+		+		-	-	-	+	-	-						
132					-	+	-	-	+	-						
173	+		-		+	-	-	-	-	-	+	+		+	+	
241	+		-								+			-		

endometrioides Ovarialcarcinom x)

Nr.	Glykogen Epithel Best	Glykogen Epithel D.-PAS	Glykogen Stroma Best	Glykogen Stroma D.-PAS	saure MPS Epi.	saure MPS Str.	saure MPS Zyst.-Fl.	neutr. MPS Epi.	neutr. MPS Str.	neutr. MPS Zyst.-Fl.	Fette Epithel SSB	Fette Epithel NB	Fette Epithel Sch.-R.	Fette Stroma SSB	Fette Stroma NB	Fette Stroma Sch.-R.
					Alcianblau-PAS, Astrablau-PAS, (Toluidinblau)											
45	-		+		+	+	-	+	-	-				-		
164	+		-		+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-
195		-		-	+		+			+	-	-	-	+	+	+
253					+			+			+			-		
272		-		-	+	-		-	-		+		+	-		-

x) Erklärung der Abkürzungen s. S.37

Klinik der 29 Ovarialcarcinome

Entsprechend der internationalen Stadieneinteilung gehören von den 29 Carcinomen jeweils 6 dem Stadium I und II, 14 dem Stadium III und 3 dem Stadium IV an.

Die Patientinnen waren alle, außer 4, zur Zeit ihrer Erstbehandlung im Senium. Das Durchschnittsalter beträgt 58,0 Jahre. Zum Zeitpunkt der Untersuchung lebten noch 8 Patientinnen. In den Tumoranamnesen von 6 Patientinnen werden Blutungen nach der Menopause und in einem Fall Blutungsanomalien angegeben. 4 Patientinnen haben neben ihrem Ovarialcarcinomen noch ein Carcinom des Uterus. Es handelt sich in 3 Fällen um ein Corpus- und in einem Fall um ein Collumcarcinom. Die 3 Corpuscarcinome haben nach den von Bilow (1969) durchgeführten Untersuchungen in 2 Fällen ein "proliferatives Muster" und in einem ein "sekretorisches Muster".

Die beiden Corpuscarcinome vom proliferativen Typ enthalten vorwiegend saure neben einer geringen Menge neutraler Mucopolysaccharide. Beim entdifferenzierten Carcinom findet sich mit der Best'schen Carminfärbung intrazellulär sowie im Sekret Glykogen, und mit Sudanschwarz B eine feine Granula. Das Stroma ist in beiden Tumoren perjodatreaktiv.

Das Corpuscarcinom mit dem sekretorischen Muster weist sowohl intrazellulär, als auch im Sekret sehr viel perjodatreaktives Material auf, das aber vorwiegend aus Glykogen besteht. Die Zellen enthalten außerdem noch sudanophile Granula, die sich auf den apikalen Zellteil konzentriert. Das Stroma zeigt nur eine geringe Perjodatreaktivität.

F. D I S K U S S I O N

Insgesamt wurden 29 Tumoren auf ihren Gehalt an Kohlenhydraten und Fetten untersucht. Histologisch handelte es sich um 14 papillär-seröse Cystadenocarcinome, 2 mucinöse Cystadenocarcinome, 5 endometrioide Carcinome und 8 undifferenzierte Ovarialcarcinome.

Die Ergebnisse v. Numers und Fortelius (1963) bei 8 papillär-serösen Cystadenocarcinomen mit der Toluidenblaumetachromasie können wir bestätigen. Es stellt sich sowohl im Stroma als auch in den Tumorzellen und der Cystenflüssigkeit metachromotropes Material dar. Nach der weiteren histochemischen Aufschlüsselung handelt es sich dabei um saure Mucopolysaccharide. In den Tumörzellen findet sich neben der Granula noch in grösserem Maße solche aus neutralen Mucopolysacchariden bestehende. Ebenso weist der Cysteninhalt neben vorwiegend neutralen, saure Mucopolysaccharide auf. Die Epithelzellen haben auch einen geringen Gehalt an Neutralfetten.

Bei den von uns bei 4 papillär-serösen Cystadenocarcinomen beobachteten großen Zellen mit schaumig-wabig strukturiertem Cytoplasma handelt es sich wahrscheinlich um luteinisierte Thekazellen. Morphologisch und histochemisch drängt sich jedoch der Vergleich mit den im Corpuscarcinom vorkommenden Schaumzellen auf.

Wie Krone und Littig (1959) und Dallenbach-Hellweg (1964) am Corpuscarcinom, konnten wir in diesen Zellen neben Polysacchariden auch Neutralfette nachweisen. Weiterhin haben wir in 2 Fällen auch Cholesterin darstellen können.

Das mucinöse Cystadenocarcinom enthält nach unseren und den von Fisher (1954) und Zilliacus (1951) durchgeführten Untersuchungen im Gegensatz zum papillär-serösen Cystadenocarcinom vorwiegend saure Mucopolysaccharide. In gerin-

gen Mengen lassen sich daneben aber neutrale Mucopolysaccharide sowie Glyko- und Mucoproteide nachweisen. Dieses Verhältnis ist sowohl bei der intrazellulären Sekretvorstufe als auch beim Sekret selbst zu beobachten.

Das endometrioide Carcinom enthält intrazellulär überwiegend neutrale Mucopolysaccharide, während das nachweisbare Sekret nur aus sauren Mucopolysacchariden zu bestehen scheint. Glykogen konnte ebenso wie in den anderen Carcinomen nicht mit Sicherheit nachgewiesen werden. Das Bindegewebe zeigt insgesamt nur einen geringen Mucopolysaccharidgehalt.

Im Stroma von zwei dieser Carcinome konnten sudanophile und cholesterinhaltige Zellelemente nachgewiesen werden, die wohl den sogenannten enzymaktiven Stromazellen entsprechen, die zum ersten Mal von Scully und Richardson (1961) beschrieben wurden. Nach neueren grossen Untersuchungen von A.Pfleiderer jun. und G. Teufel (1967) handelt es sich dabei um thekazellähnliche, wahrscheinlich Oestrogene oder Androgene produzierende Elemente, die in 37% der Fälle im Bindegewebe der Ovarialtumoren nachgewiesen werden konnten.

In den undifferenzierten Ovarialcarcinomen ist der nachweisbare Polysaccharidgehalt insgesamt gering. Es lassen sich sowohl saure als auch neutrale Mucopolysaccharide darstellen. Sie lassen kein einheitliches Bild erkennen.

Diese letzteren Befunde und die innerhalb der einzelnen Carcinomgruppen gemachte Beobachtung, daß der Gehalt an nachweisbaren Polysacchariden mit zunehmender Entdifferenzierung abnimmt, wurde auch schon von anderen Autoren beschrieben. So beobachteten Fisher (1954) und Zilliacus (1951) an mucinösen Cystadenocarcinomen, Remotti (1955) an adenomatösen Eierstocksgewächsen und v. Numers und Fortelius (1953) an papillär-serösen Cystadenocarcinomen eine Abnahme der PAS-Reaktion mit zunehmender Entdifferenzierung. Es scheint also eine gewisse Parallelität zu bestehen.

Betrachten wir unsere und die Ergebnisse anderer Autoren hinsichtlich der Abstammung der Tumorzellen vom Keim-

Vergleichende Zusammenstellung der histochemischen Muster

(unter Verwendung unserer und der Ergebnisse anderer Autoren)

a) Tube und papillär-seröses Cystadenocarcinom[x)]

	Tube			pap.-ser.Cystadeno.-Ca.		
	Epithel	Stroma	Sekret	Epithel	Stroma	Sekret
Glykogen	+		+	+ (?)		
s.MPS				+	+	+
n.MPS	++		++	++		++
Fette	+	+		+	+	

b) Cervix uteri und mucinöses Cystadenocarcinom[x)]

	Cervix uteri			mucin. Cystadeno.-Ca.		
	Epithel	Stroma	Sekret	Epithel	Stroma	Sekret
Glykogen						
s.MPS	++		++	++		++
n.MPS	+			+		
Fette						

c) Corpus uteri und endometrioides Ovarial-Ca.[x)]

	Endometrium			endometr. Ca.		
	Epithel	Stroma	Sekret	Epithel	Stroma	Sekret
Glykogen	+					
s.MPS			++	+ (+)		+
n.MPS	++			++		
Fette	+			+		

x) Erklärung der Abkürzungen s. S.37

epithel, so fällt auf, daß sie in ihrem histochemischen Muster eine gewisse Ähnlichkeit mit den aus den Müller'schen Gängen abstammenden Organabschnitten aufweisen. So zeigt das papillär-seröse Cystadenocarcinom mit seinem vorwiegenden Gehalt an neutralen Mucopolysacchariden neben wenigen sauren, Ähnlichkeit mit der epithelialen Auskleidung der Tube. Das mucinöse Cystadenocarcinom hingegen ahmt mit dem Überwiegen der sauren Mucopolysaccharide, die auch Hauptbestandteil des fädigen Schleimes sind, mehr die Schleimhaut des Cervixbereiches nach.

Nicht zuletzt ist aber auch das endometrioide Carcinom zu erwähnen, das saure und neutrale Mucopolysaccharide, erstere vorwiegend intrazellulär, letztere im Sekret, enthält. Dies kommt besonders deutlich bei den ausdifferenzierten Tumoren zum Vorschein.

Z U S A M M E N F A S S U N G

Untersucht wurden 29 Ovarialcarcinome.Histologisch handelte es sich in 14 Fällen um papillär-seröse, in 2 um mucinöse Cystadenocarcinome,in 5 um endometrioide Carcinome, sowie in 8 Fällen um undifferenzierte Ovarialcarcinome.

Die papillär-serösen Cystadenocarcinome enthalten neutrale Mucopolysaccharide neben einer geringen Menge saurer Mucopolysaccharide und Neutralfetten.

Das mucinöse Cystadenocarcinom weist vorwiegend saure Mucopolysaccharide auf.

In den undifferenzierten Ovarialcarcinomen liessen sich nur kleine Mengen saurer und neutraler Mucopolysaccharide nachweisen.

Insgesamt kam eine Verringerung des Mucopolysaccharidgehaltes mit fortschreitender Entdifferenzierung zur Beobachtung.

Erklärung der Abkürzungen

D.-PAS = Diastase-PAS
Best = Best'sche Carminfärbung
SSB = Sudanschwarz B
NB = Nil Blau
Sch.-R = Scharlachrot
Epi. = Epithel
Str. = Stroma
Zyst.-Fl. = Zystenflüssigkeit
s. MPS = saure Mucopolysaccharide
n. MPS = neutrale Mucopolysaccharide

L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

1) ATKINSON, W.B.: The histochemistry of normal and abnormal growth in the human endometrium.
Tex. Rep. Biol. Med. 13, 603-610 (1955).

2) BALBONI, G.: Ricerche istochimice sul'epitelio tubarico della donna.
Riv. ostet. Ginec. 9, 164-194 (1954).

3) BERNHARD, F.: Glykogen-, Glucose- und Milchsäuregehalt in gut- und bösartigen Tumoren.
Klin. Wschr. 7, 1184-1185 (1928).

4) BEST, F.: Über die Karminfärbung des Glykogens und der Kerne.
Z. wiss. Mikr. 23, 319-322 (1906).

5) BILOW, H.: Die Verteilung von Kohlenhydraten und Fetten im Corpuscarcinom.
Med. Diss. Tübingen 1969.

6) BORST, M.: Lehre von den Geschwülsten.
Wiesbaden 1902.

7) BOZZO, G. B.: Ricerche istochimice sui mucopolisaccaridi dell' epitelio uternio umano e sulla sensibilità ad alcuni enzimi mucinolitici.
Qnd. Clin. ostet. ginec. 7, 169-192 (1953).

8) BURGHEIM, F.: Über Beziehungen zwischen Krebs und Lipoidstoffwechsel.
Klin. Wschr. 8, 828-830 (1929).

9) BUTENANDT, A. und DANNENBERG, H.: Die Biochemie der Geschwülste.
In: Handbuch der allgemeinen Pathologie VI, 3, 107-241 (1956).

10) CAIN, A. J.: The use of Nile blue in the examination of lipoids.
Quart. J. micr. Sci. 88, 383-392 (1947).

11) CAIN, A. J.: An examination of Baker's Acid haematin test for phopholipines.
Quart. J. micr. Sci. 88, 467-478 (1947).

12) CARRUTHERS, C. and DAVIS, B.: The lipid composition of epidermis and dermis of mice undergoing carcinogenesis by methylcholanthrene.
Cancer Res. 21, 82-85 (1961).

13) CATHIE, J.A.B.: The value of the Schultz Cholesterol reaction in the diagnosis of malignancy.
J. Path. Bact. 43, 587-588 (1936).

14) CHAHOVITCH, X.: Histochemische Untersuchungen in pathologisch veränderten Geweben: II Beitrag zur Kenntnis der histolog. Differentialdiagnose mittels histochemischer Reaktionen des Cholesterins bei experimentellen Geschwülsten.
Z. Krebsf. 34, 263-265 (1931).

15) ----------: Histochemische Untersuchungen in pathologisch veränderten Geweben: I Beitrag zur Kenntnis der histologischen Diagnose der Geschwülste mittels histochemischer Reaktion des Cholesterins nach Schultz.
Z. Krebsf. 34, 258-262 (1931).

16) CONILL, V.: Ein Vorschlag für eine moderne klinische Einteilung der Ovarial- und Paraovarialblastome.
Arch. f. Gynaek. u. Geburtsh. 161, 462-464 (1936).

17) DALLENBACH- HELLWEG, G.: Das Carcinom des Endometriums und seine Vorstufen.
Vortrag auf der 48. Tagung der dtsch. Gesellsch. f. Pathologie.
Erschienen bei Gustav Fischer Verlag- Stuttgart 1964, S. 81-110.

18) DANIELLI, J. F.: A critical study of techniques for the cystochemical demonstration of aldehydes.
Quart. J. micr. Sci. 90, 67-74 (1949).

19) DEANE, H. W.: Histochemical observations on the ovary and ovidnet of the albino rat during the estrons cycle.
Amer. J. Anat. 91, 363-414 (1952).

20) DEMPSEY, E.W., BUNTING, H., SINGER, M. and WISLOCKI, G.B!: The dye-binding capacity and other chemohistological prosperities of mammalian mucopolysaccharides.
Anat. Rec. 98, 417-429 (1947).

21) DIEZEL, P.B. und NEIMANIS, G.: Über den Metachromasieeffekt von Sudanschwarz B.
Virchows Archiv 330, 619-628 (1957).

22) DRIESSEN, L. F.: Glykogenproduktion, eine physiologische Funktion der Uterusdrüsen.
Zbl. Gynäk. 35, 1308-1313 (1911).

23) EBNER, H. J.: Untersuchungen zur Cytologie und Cytochemie cilioepithelialer Tumorzellen im Punktat seröser Ovarialcystome und Cystadenocarcinome.
Z. Krebsf. 59, 581-593 (1953).

24) FAWCETT, D. W. and WISLOCKI, G. B.: Histochemical observations of the human oviduct. (Jap.)
Arch. histol. Jap. 10, 243-280 (1956).

25) FEIGIN, J.: A method for the histochemical differentiation of cholesterol and its esters.
J. biophys. biochem. Cyt. 2,213-215 (1956).

26) FISHER, E.R.: "Pseudomucinons" cystadenoma: a misnomer? Histochemical studies of pseudomucinons cystomas and cystadenocarcinomas with special reference to their apparent muco-

polysaccharide secretions.
Obstet. Gynec. 4, 616-621 (1954).

27) FREDRICSSON, B.: Histochemical studies on the epithelium in the human Fallopian tubes and comparison between different animal species.
Ark. Zool. 11, 110-111 (1957).

28) ----------: Histochemical observations on the epithelium of human Fallopian tubes.
Acta obstet. Gynec. scand. 38, 109-134 (1959).

29) GEDIGK, P.: Histochemische Darstellung von Kohlenhydraten.
Kl. Wschr. 45-46, 1057-1065 (1952).

30) ----------: Über neue Färbeverfahren für Mucopolysaccharide und Phospholipide.
Zbl. allg. Path. path. Anat. 95, 486 (1956).

31) GESTALDI, A.: Studio istochimico dei cistomi ovarici contributio all istogenesi.
Am. Ostet. Ginec. 77 (1955).

32) GILLMAN, J.: Fat: an index od oestrogen and progestogen activity in human endometrium.
Nature (Lond.) 146, 402 (1940).

33) ----------: The lipides in the human endometrium during the menstruale cycle and pregnancy and their relationship to the metabolism of oestrogen and progestogen.
S. Afr. J. med. Sci. 6, 58-81 (1941).

34) GRAUMANN, W., HEINKE, W. und SIEGEL, P.: Die Variationsbreite des histochemischen Verhaltens der Schleimstoffe in der menschlichen Cervix uteri.
Acta histochem. 23, 288-294 (1966).

35) GOODRELL: zitiert nach: DOCKERTY, M.B.:
Ovarian neoplasms. A collective review of

the recent literature.
Surg. Gynec. and Obst. (Abst.) 81, 179-204 (1945).

36) GREENSTEIN, J.P.: Biochemistry of Cancer. 2nd Edition. New York: Academic Press (1954).

37) HANSEN, F.C.C.: Über die Ursachen der metachromatischen Färbungen bei gewissen basischen Farbstoffen.
Z. Mikrosk. 25, 145-154 (1908).

38) HARTER, B. T.: Glycogen and carbohydrate-protein complexes in the ovary of the white rat during the oestrons cycle.
Anat. rec. 102, 349-368 (1948).

39) HERTIG, A.T. und HAZEL, G.: In: Atlas of tumor pathology. Section IX Fascide 33 (1961).

40) HERXHEIMER, G.W.: Über Fettfarbstoffe.
Dtsch. med. Wschr. 36, 607-609 (1901).

41) Histologische Nomenklatur menschlicher Tumoren.
9. Eierstock.
Z. Krebsforsch. 63, 75-98 (1959).

42) ISHIDA, K.: Morphology and cytochemistry of ovaries of demestic animals.
Agr. Res. 4, 197-211 (1954).

43) JOHNSON, R.M. and DUTCH, P.H.: The composition of lipids of resting an pregnancy stimulated mammary glands and mammary carcinomas.
Arch. Biochem. Biophys. 40, 239-244 (1952).

44) JOWETT, M.: The phosphatide and cholesterol contents of normal and malignant human tumors.
Biochem. J. 25, 1991-1998 (1931).

45) KELLNER, B.: Zur Morphologie der Fette in Geschwülsten.
Frankf. Z. Path. 47, 454-461 (1935).

46) ----------: Die Fettmorphologie der Carcinome mit

besonderer Rücksicht auf die Disjunktion der Geschwulstzellen.
Z. Krebsf. 49, 633-656 (1940).

47) KISZELY-POSALAKY: Mikrotechnische und histochemische Untersuchungsmethoden.
Akademiai Kiadó, Budapest 1964.

48) KOCH : Über Psammomkörner im Ovarium.
A. f. Gyn. 94, 833-855 (1911).

49) KÖGL, F., SINAK, C., VEERKAMP, J.H. and VAN DEENEN, L.L.M.: Metabolism and functions of phosphatides. Investigations on the phosphatides of some experimental tumors.
Z. Krebsforsch. 63, 558-568 (1960).

50) KOTTMEIER, H.L.: Classification and staging of malignant tumors in female pelois.
J. Int. Federat. Gynec. and Obstet. 3, 204-210 (1965).

51) KRONE, H.A. und LITTIG, G.: Über das Vorkommen von Schaumzellen im Stroma von Adenocarcinomen des Corpus uteri.
Arch. F. Gynäk. 191, 432-436 (1959).

52) KRUCKENBERG, H.: Untersuchungen zur cytochemischen Glykogendarstellung.
Med.Diss. Göttingen 1954.

53) LANGHANS, Th.: Über Glykogen in pathologischen Neubildungen und in menschlichen Eihäuten.
Virchows Arch. path. Anat. 120, 28-67 (1890).

54) LEBLOND, C.P., GLEGG, R.E. und EIDINGER, D.: Precence of carbohydrates with free 1,2-glycol groups in sites staining by the perjodic-acid-Schiff technique.
J. Histochem. Cytochem. 5, 445-458 (1957).

55) LENNERT, K. und WEITZEL, G.: Zur Spezifität der histologischen Fettfärbungsmethoden.
Z. wiss. Mikr. 61, 20-29 (1952).

56) LEROUX, R., LEVRET und WEINROTH: Étude morphologique des épitheliomes de l'ovaire.
Ass. franc. p. l'étude du cancer p. 480 (1935).

57) LILLIE, R. D.: Studies on the histochemistry of normal and pathological mucins in man and in laboratory animals.
Bull. int. Ass. med. Mus. 29, 1-53 (1949).

58) LISON, L. und DAGNELIE, J.: zitiert nach Pearse: Histochemistry. London (1960).

59) LORRAIN-SMITH, J.: zitiert nach Pearse: Histochemistry. London (1960).

60) MALAPRADE, L.: Oxydation de quelques polyalcools par l'acide periodique.
C.R. Acad. Sci. (Paris) 186, 382-384 (1928).

61) Mc MANUS, J.F.A.: Granules of human polymerpho- nuclear leucocytes.
Nature. London, 156, 173 (1945).

62) MEIGS, J. V.: zitiert nach Dockerty, M.B.: Ovarian neoplasms. A collective review of the recent literature.
Surg. Gynec. and Obst. 81, 179-204 (1943).

63) MEYER, R.: Zur Histogenese und Einteilung der Ovarialkystome.
Mschr. f. Geb. u. Gyn. 44, 302-331 (1916).

64) MICHAELIS, L.: Metachromasie. In: Ehrlich: Enzykl. Mikrosk. Technik 2.Teil, 797 (1926).

65) MILLER, J.: Krankheiten des Eierstockes. In: Henke-Lubarsch:

Handbuch d. spez. path. Anat.u.Histol. Band VII/3 Berlin: Springer (1937).

66) MOORE, R.D. und SCHOENBERG, M.D.: Low temperature sulfation of tissues and the demonstration of metachromasy. Stain. Technol. 32, 245-247 (1957).

67) MOSS, S., WRENN, T. and SYKES, J. F.: Some histological and histochemical observations of the bovine ovary during the estrons cycle. Anat. Rec. 120, 409-433 (1954).

68) MOWRY, R.W.: Alcian blue technics for the histochemical study of acidic carbohydrates. J. Histochem. Cytochem. 4, 407-411 (1956).

69) NOVAK, E.R. and WOODRUFF, J.D.: Gynecologic and obsteric pathology. 5th ed. Philadelphia,London: W.B. Saunders Company 1962.

70) v. NUMERS, C. und FORTELIUS, P.: Untersuchungen über den Gehalt des Tumorgewebes an freier chromotroper Substanz und Mastzellen bei verschiedenen Formen von Cystadenoma serosum ovarii. Ann. Med. exp. F.Fenn. 31, 313-319 (1953).

71) OSTER, K.A. und OSTER, J.G.: zitiert nach Gedigk: J. of Pharmacol. 87, 306 (1946).

72) PAPPENHEIM, A.: zitiert nach Kiszely-Posalaky: Mikrotechnische und histochemische Untersuchungsmethoden. Budapest (1964).

73) PEARSE, A.G.E.: Histochemistry - Theoretical and Applied. 2nd ed. London: J. and A.Churchill LTD (1960).

74) PFANNENSTIEL, J.: In: Veit's Handbuch für Gynäkologie und Geburtshilfe (1966).

75) PFLEIDERER, A. jr.: persönl. Mitteilung

76) ----------: Histochemische Untersuchung der Fette und Lipoide im Gelbkörper. Frankfurt, Z.Path. 70, 207-234 (1959).

77) ----------, und TEUFEL, G.: Zum Problem der hormonalen Aktivität des Ovarialcarcinoms. Histochem. Untersuchungen an 150 Ovarialtumoren. Vortrag bei der Herbsttagung der Oberrh. Gesellsch. für Gebh. u. Gyn. (1968).

78) PICK, L.: Die Marchandschen Nebennieren und ihre Neoplasmen nebst Untersuchungen über glykogenreiche Eierstocksgeschwülste. Arch. Gynäk. 64, 670-838 (1901).

79) PIOCH, W.: Über die Darstellung saurer Mucopolysaccharide mit dem Kupferphtalocyaninfarbstoff Astrablau. Virchow. Arch. Path. Anat. 330, 337-346 (1957).

80) POTTER, V.R.: An Enzyme-Virus Theory Regarding Carcinogenesis. Cancer Research 3, 358-361 (1943).

81) REMOTTI, G.: Ricerche istochimice sul comportamente della reazione di Hotchkiss nei tumori d'ell ovario a struktura ghiandolare. Ann. Ostet. Ginec. 77, 950-978 (1955).

82) RUNGE, H. und EBNER, H.: Die Bedeutung der Histochemie für die Gynäkologie. Klin. Fortschr. Gynäkol. 142-180 (1954).

83) SAVOR : zitiert nach Werner: Ein Beitrag zur Frage des Psammomcarcinom des Ovars. Z. Geburtsh. 114, 140-146 (1937).

84) SCHEYER, H.E.: Über die Lipoide der Tube. Virchow.Arch.path.Anat. 262,712-734 (1962).

85) SCHILLER, W.: Zur histologischen Frühdiagnose des Portiocarcinoms.
Zbl. Gynäk. 52, 1562-1567 (1928).

86) ----------: Concepts of an new classification of ovarian Tumors.
Surg. Gynec. and Obst. 70, 773-782 (1940).

87) SCHMIDT-MATTHIESEN, H.: Das normale menschliche Endometrium.
Stuttgart: Thieme 1963.

88) SCHNABEL, R.: Über den topochemischen Nachweis von freiem und verestertem Cholesterin.
Histochemie 3, 127-137 (1962).

89) ----------: Eine topochemische Methode zur Differenzierung des freien und veresterten Cholesterins.
Acta histochem. 18, 161-167 (1964).

90) SCHULTZ, A.: Eine Methode des mikrochemischen Cholesterinnachweises an Gewebschnitten.
Zbl. allg. Path. path. Anat. 35, 314-317 (1924/25).

91) SOIVA, K. und CASTREN, O.: Analysis of lipids from ovarian tumors.
Ann. J. Obst. and Gynec. 54, 273-280 (1947).

92) SPENCER, J.A. and REEL, Ph.J .: A classification of ovarian tumors based upon Histogenesis.
Am.J. Obst. and Gynec. 54, 273-280 (1947).

93) SPYKER, M.A.and FIEDLER, R.S.: Glycogen studies on the human endometrium correlation of quanditative chemical estimation and the qualitative demonstration by histo ogical methods.
J. Clin. Endocrin. 2, 365-368 (1942).

94) STERNBERG, W.H.: The morphology, androgenic function,

hyperplasia and tumors of the human ovarian.
Amer.J.Path. 25, 493-521 (1949).

95) STOERK, O,: Zur Histogenese der Grawitz'schen Nierengeschwülste.
Beiträge path. Anat. 43, 393-437 (1908).

96) SYLVEN, B.: Metachromatic Dye-Substrate Interactions.
Quart. J. Microsc. Sci., 95, 3, 327-358 (1954).

97) SZODORAY, L. und SPANYAR, P.: Beiträge zur Kenntnis der Fettsubstanzen der Hautgeschwülste.
Virchow. Arch. path. Anat. 289, 493-503 (1933).

98) TAYLOR, H.C.jr.: Vorschlag zur Einteilung der häufigsten epithelialen Ovarialtumoren.
Geburtsh. u. Frauenheilk. 22, 1365-1367 (1962).

99) TEUFEL, G.: Vorkommen und Bedeutung von Thekaelementen in Ovarialcarcinomen. Histochemische Untersuchungen.
Med.Diss. Tübingen 1969.

100) TSUCHIYA, K.: Cystological and histological examinations of the human oviduct (japan.)
Arch. histol. jap. 10, 243-280 (1955).

101) VARGAS, C. H.: Cholesterine in cutaneous cancer.
Urol. cut. Rev. 36, 310-311 (1932).

102) Vorschlag zur Einteilung der häufigsten epithelialen Ovarialtumoren.
Z. f. Krebsforschung 65, 254-256 (1963).

103) WARBURG, O,: Über den Stoffwechsel der Tumoren.
Berlin: Springer 1926.

104) ----------: Über die Entstehung der Krebszelle.
Naturwiss. 42, 401-406 (1955).

105) WEGELIN, C.: Der Glykogengehalt der menschl. Uterusschleimhaut.
Zbl. allg. Path. path. Anat. 22, 1-8 (1911).

106) WERNER, E.: Ein Beitrag zur Frage des Psammomcarcinom des Ovars.
Z. Geburtsh. 114, 140-146 (1937).

107) WISLOCKI, G.B. and DEMPSEY, E.W.:
The chemical histology of the human placenta and decidna with reference to mucopolysaccharides, glycogen, lipids and acidphosphatase.
Amer. J. Anat. 83, 1-41 (1932).

108) YOSUDA, M. and BLOOR, W.R.: Lipid contend of tumors.
J. Clin. Inv. 11, 677-682 (1932).

109) ZILLIACUS, H.: Staining of polysaccharide structures in benign pseudomucinous cystadenoma of the ovary.
Acta obstet. gynec. scand. 31, 448-454 (1951).

110) ----------: Staining of polysaccharide structures in pseudomucinous adenocarcinoma of the ovary.
Acta obstet. gynec. scand. 31, 455-461 (1951).

Lebenslauf

Am 2o. November 1938 wurde ich,Hermann Junger,als vierter Sohn des Reinhard Junger, Postoberamtmann, und der Frieda Junger, geborene Ziegler, in Tübingen geboren.

Nach dem Besuch der Grundschule von 1946 bis 195o in Derendingen trat ich in das Kepler-Gymnasium für Jungen in Tübingen ein.Die schulische Ausbildung beendete ich im Frühjahr 196o mit dem Abitur.

Im Herbst 196o immatrikulierte ich mich an der Universität Tübingen für das Medizinstudium,wo ich es dann auch 1966 mit dem Staatsexamen abschloß.

Druckbüro Frau Elly HUTH, 74 Tübingen